

IDENTIFIKASI GELATIN DARI TULANG IKAN PATIN HASIL EKSTRAKSI MENGGUNAKAN KULIT NANAS DENGAN ELEKTROFORESIS VERTIKAL

Yoni Atma^{1*}, Hisworo Ramdhani²

^{1,2}Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Bioindustri, Universitas Trilogi,
Jl. Kampus Trilogi No. 1, Kalibata, Jakarta Selatan 12760

*E-mail: yoniatma@universitas-trilogi.ac.id

ABSTRAK

Tulang ikan merupakan sumber alternatif yang paling potensial untuk produksi gelatin. Upaya pencarian gelatin dari berbagai jenis tulang ikan juga dilakukan melalui serangkaian penelitian di Indonesia. Namun, keberhasilan hasil ekstraksi hanya diukur dengan kadar protein kasar atau rendemen. Padahal identifikasi keberhasilan ekstraksi dapat dilakukan dengan metode yang lebih akurat. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi gelatin tulang ikan patin hasil ekstraksi dalam cairan kulit nanas dengan metode elektroforesis vertikal. Tahapan ekstraksi gelatin dilakukan dengan *pre-treatment* tulang ikan patin dalam ekstrak kulit nanas selama 21-27 jam. Ekstraksi utama dalam air dilakukan 5 jam pada suhu 65-75 °C. Identifikasi keberadaan gelatin hasil ekstraksi dilakukan dengan metode *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE). Penetapan keberhasilan hasil ekstraksi dengan metode SDS-PAGE dilakukan dengan bantuan protein penanda (*marker*) dan perbandingan terhadap penelitian-penelitian terdahulu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gelatin tulang ikan patin yang diekstrak dengan kulit nanas teridentifikasi dalam gel poliakrilamid pada kisaran berat molekul ~120 kDa (jenis alfa gelatin). Berat molekul ini sesuai dengan penelitian ekstraksi tulang ikan patin menggunakan asam klorida dan ekstraksi tulang ikan beloso. Berdasarkan identifikasi dengan SDS-PAGE diketahui bahwa pita yang lebih nyata dan cukup tebal antar perlakuan terdapat pada perlakuan *pre-treatment* 27 jam dan ekstraksi utama 5 jam suhu 75 °C.

Kata kunci: gelatin, tulang ikan, elektroforesis vertikal, ekstraksi

ABSTRACT

Fish bones are the most potential alternative source for gelatin production. The effort for searching of gelatin from various types of fish bones has been through a series of research in Indonesia. However, the successful extraction step only measured by the crude protein content or yield. The identification of extraction step should be with more accurate method. This research was conducted to identify gelatin from Pangasius catfish bone that extracted with pineapple skin by vertical gel electrophoresis. The gelatin extraction were done by pre-treatment in pineapple skin extract for 21-27 hours. The main extraction in water was carried out for 5 hours at 65-75 °C. The identification of gelatin extraction was done by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) method. The protein marker and comparative study with similar research used to determine of fish bone gelatin existence. The results showed that fish bone gelatin Pangasius catfish extracted with pineapple skin was identified in polyacrylamide gel at molecular weight range ~120 kDa (alfa gelatin type). It was confirm to fish bone gelatin from Pangasius catfish that extract using HCl and fish bone gelatin of Lizardfish. The electrophoresis gel shown more seems rather clear and a bit thick in 27 h pre-treatment and 5 h main extraction temperature 75 °C among another extraction treatment.

Keywords : gelatin, fish bone, vertical electrophoresis, extraction

PENDAHULUAN

Saat ini pencarian sumber alternatif untuk produksi gelatin sudah banyak dilakukan. Sumber alternatif untuk produksi gelatin antara lain seperti tulang ayam (Widyasari & Rawdkuen 2014), serangga (Mariod *et al.* 2011), kulit dan tulang hewan ruminansia kecil dan limbah hasil pengolahan ikan (Gomez-Guillen *et al.* 2011). Limbah

hasil pengolahan ikan merupakan sumber potensial untuk produksi gelatin. Diantara hasil samping pengolahan ikan, kulit dan tulang memberikan persentase terbesar. Oleh karena itu banyak penelitian-penelitian yang terkait gelatin dari kulit dan tulang ikan (Wasswa *et al.* 2007).

Gelatin dari kulit dan tulang perairan hangat memiliki karakteristik fisik yang lebih

baik dibandingkan gelatin dari kulit dan tulang ikan perairan dingin (Gomez-Guillen *et al.* 2009). Sehingga gelatin dari kulit dan tulang ikan perairan hangat lebih berpotensi untuk dikembangkan. Diantara gelatin yang berasal dari kulit dan tulang ikan hingga saat ini diketahui bahwa yang berasal dari tulang ikan patin memberikan hasil ekstraksi (*extraction yield*) yang paling tinggi (Atma, 2016). Gelatin dari tulang ikan patin juga memiliki kadar abu yang sesuai dengan standard (Atma, 2017), serta sifat fisik yang menyerupai gelatin sapi komersial (Mahmoodani *et al.* 2014).

Gelatin tulang ikan diperoleh dengan cara ekstraksi. Penelitian-penelitian tentang ekstraksi gelatin dari tulang ikan pada jurnal bereputasi didominasi oleh peneliti-peneliti luar negeri seperti diantaranya ekstraksi gelatin dari tulang ikan nila perch (*Lates niloticus*) (Muyonga *et al.* 2004), bagian kartilego (tulang rawan) ikan hiu (*Isurus oxyrinchus*) (Cho *et al.* 2004), kepala ikan kod (Arnesen & Gildberg, 2006), ikan beloso (*Saurida tumbil*) (Taheri *et al.* 2009), king weakfish (*Macrodon ancylodon*) (Alfaro *et al.* 2009), ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) (Sanaei *et al.* 2013), dan ikan patin (*Pangasius sutchi*) (Mahmoodani *et al.* 2014).

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya laut dan hasil perikanan. Oleh karena itu, upaya pencarian gelatin dari berbagai jenis tulang ikan juga dilakukan. Tulang ikan yang telah diteliti sebagai sumber produksi gelatin di Indonesia diantaranya seperti ikan cucut (Indrialaksmi 2000), bandeng (Fatimah & Jannah 2009), tuna (Marsaid & Atmaja 2011), nila merah (Rahayu & Fithriyah, 2015), lele dumbo (Iqbal *et al.* 2015), tenggiri (Adiningsih & Purwanti 2015), pari mondol (Santoso *et al.* 2015) dan kakap merah (Syahraeni *et al.* 2017). Pada penelitian ini, keberhasilan hasil ekstraksi hanya bisa diukur dengan kadar protein kasar yang dihasilkan dan sebagian bahkan hanya mengukur rendemen yang diperoleh.

Keberhasilan proses ekstraksi gelatin dari tulang ikan pengukurannya dilakukan berdasarkan gelatin yang diperoleh (Zhang *et al.* 2011; Taheri *et al.* 2009). Gelatin merupakan protein, tetapi tidak semua protein adalah gelatin. Oleh sebab itu, pengukuran protein kasar akan mengukur juga protein selain gelatin. Sedangkan pengukuran rendemen akan mengukur komponen-

komponen lain yang terkandung dalam tulang yang mempengaruhi berat gelatin seperti mineral dan karbohidrat. Maka dari itu, pengukuran gelatin hasil ekstraksi harus akurat. Salah satu metode yang dapat mengidentifikasi keberadaan gelatin hasil ekstraksi yakni dengan elektroforesis vertikal.

Elektroforesis vertikal atau yang biasa dikenal dengan metode sodium *dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) merupakan metode analisis protein berdasarkan prinsip laju migrasi dengan bantuan arus listrik. Protein yang memiliki berat molekul lebih ringan akan melewati gel berpori lebih cepat dibandingkan protein yang memiliki berat molekul lebih besar. Protein dengan berat molekul tertentu akan teridentifikasi keberadaannya dengan bantuan protein penanda (*marker*) yang telah diketahui berat molekulnya. Penelitian yang menggunakan prinsip elektroforesis vertikal dalam uji konfirmasi keberadaan gelatin tulang ikan hasil ekstraksi antara lain seperti penelitian Mahmoodani *et al.* (2014) tentang gelatin tulang ikan patin, Zhang *et al.* (2011) tentang gelatin tulang ikan koan, Alfaro *et al.* (2009) tentang gelatin tulang dari king weakfish, Liu *et al.*, (2009) gelatin tulang dari channel catfish dan Taheri *et al.*, (2009) tentang gelatin tulang ikan beloso.

Penelitian yang kami lakukan adalah mengidentifikasi gelatin dari tulang ikan patin hasil ekstraksi menggunakan cairan kulit nanas dengan metode vertikal elektroforesis. Penggunaan kulit nanas dalam ekstraksi gelatin tulang ikan patin didasari oleh banyaknya penelitian terkait penggunaan bahan kimia yang lebih aman dalam ekstraksi gelatin seperti asam sitrat. Kulit nanas diketahui memiliki pH asam dan mengandung asam sitrat. Dengan memanfaatkan kulit nanas sebagai larutan pengekstrak gelatin diharapkan dapat meminimalisir limbah kulit nanas dan mendapatkan pelarut dari bahan alam yang tidak berbahaya terhadap manusia dan lingkungan.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperti mortar, mikropipet, tube volume 1.5ml, tube volume 2ml, timbangan analitik, kertas saring, gelas ukur, gelas piala, Erlenmeyer, perangkat *sodium dodecyl sulfate*

polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), pinset, *sentrifuge*, waterbath, standing tube, roaker, panci, kompor, plastik mika, autoklaf, dan *scanner* komputer. Sedangkan bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini meliputi tulang ikan patin, limbah kulit nanas, aquades, marker protein, aquades, buffer Tris, HCl, glisin, loading protein, *sodium dodecyl sulphate* (SDS), akrilamid, gliserol, merkaptoetanol, ammonium per-sulfate, TEMED dan *commasie blue*.

Ekstraksi Gelatin

Tulang ikan patin dibersihkan dari sisa-sisa daging yang masih menempel menggunakan air. Kemudian tulang ikan patin direbus kurang lebih 2-3 menit untuk menghilangkan bau amis. Tulang ikan selanjutnya didinginkan dan disimpan dalam *freezer*. Persiapan ekstraksi dilakukan dengan menghancurkan tulang ikan menggunakan mortar. Hancuran tulang ikan ini selanjutnya digunakan untuk ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan 2 tahap yaitu *pre-treatment* dan ekstraksi utama. *Pre-treatment* tulang ikan dilakukan dalam ekstrak cair kulit nanas dengan perbandingan 1:4 (b/v) selama 21, 25 dan 27 jam. Hasil dari tahapan *pre-treatment* dinamakan ossein. Ossein tulang ikan dipisahkan dari ekstrak kulit nanas dengan sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit suhu 4 °C. Ekstraksi utama dilakukan dengan perendaman ossein dalam aquades selama 5 jam pada suhu 75 °C dan 65 °C. Pemisahan gelatin dari pelarut ekstraksi utama dilakukan dengan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan ditampung menggunakan tube untuk dilakukan analisis keberadaan protein gelatin dengan elektroforesis vertikal.

Analisis Konfirmasi dengan Vertikal Elektroforesis

Filtrat gelatin dimasukkan sebanyak 10 µl ke dalam tube kecil dan ditambahkan panas, β-merkaptopetanol, dan *sodium dodecyl sulfate* (SDS) akan mendenaturasi protein. Reaksi antara protein terdenaturasi dengan SDS akan membentuk kompleks protein-SDS bermuatan negatif. Kompleks protein yang telah bermuatan negatif selanjutnya dapat dipisahkan antara satu dengan lainnya berdasarkan ukuran atau berat molekul secara elektroforesis pada gel poliakrilamid. Protein

dengan 10 µl loading protein. Campuran ini kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Gel elektroforesis dipersiapkan dengan komposisi 75% *separating gel* dan 25% *stacking gel* masing-masing mengandung dH₂O, Tris-HCl, akrilamid, *sodium dodecyl sulphate* (SDS), ammonium per-sulfate (APS) dan TEMED. Gel elektroforesis yang sudah ditempatkan pada perangkat elektroforesis memiliki beberapa *well* atau sumur (*well* dibuat sebelumnya pada saat gel belum mengering). Campuran filtrat gelatin dan loading protein yang telah didenaturasi kemudian dimasukkan kedalam masing-masing *well* pada gel sebanyak 15 µl. Protein marker juga dimasukkan. Metode ini dinamakan *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE). SDS-PAGE dilakukan dengan sistem diskontinu buffer Tris/HCl/glisin. Sampel kemudian di *running* pada perangkat elektroforesis selama ±30 menit. Setelah itu gel dilepaskan dari perangkat. Keberadaan dan laju migrasi protein diperjelas dengan perendaman gel pada larutan pewarna (*staining*) *commasie blue*. Tahap selanjutnya gel dibilas dengan aquades dan kemudian direndam kembali dalam larutan destaining selama 1 malam. Band atau pita protein dengan berat molekul berbeda akan tampak terpisah. Gelatin ditetapkan berdasarkan pita-pita marker protein yang telah diketahui berat molekulnya. Protein marker yang digunakan memiliki berat molekul 260 kDa, 140 kDa, 95 kDa, 72 kDa dan 52 kDa. Hasil yang diperoleh didokumentasikan menggunakan perangkat multiscan yang terhubung dengan komputer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Elektroforesis merupakan suatu keadaan berpindahnya partikel-partikel bermuatan karena pengaruh medan listrik. Pada metode *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE), keberadaan akan terdistribusi didalam gel dan kemudian berat molekul protein dapat diukur dengan bantuan protein penanda (*marker*). Posisi keberadaan protein didalam gel akan diketahui dengan bantuan pewarnaan. Protein didalam gel akan tampak seperti membentuk *band*, pita atau kumpulan warna yang terpisah berdasarkan berat molekulnya (Atma, 2011).

Pada penelitian ini, protein yang dianalisis dengan metode SDS-PAGE adalah

Gambar 1. Hasil konfirmasi dengan SDS-PAGE pada uji pendahuluan.

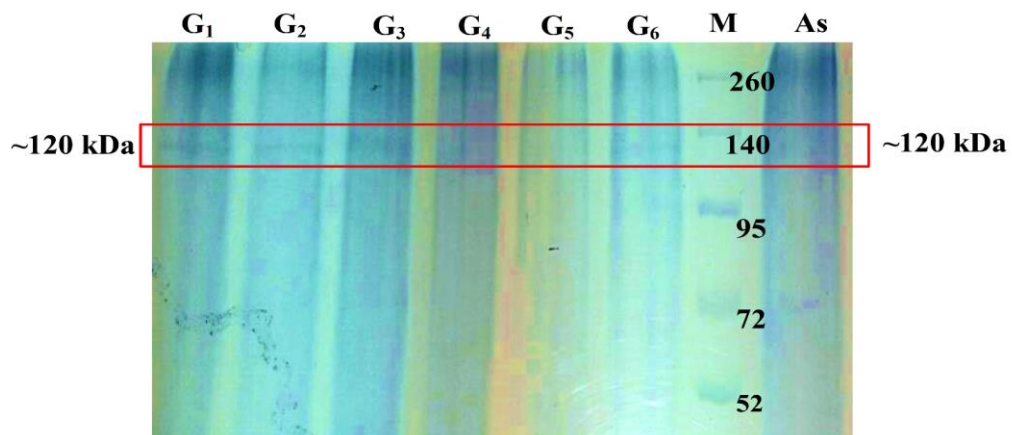
Keterangan: P₁=lama pre-treatment (t) 21 jam, P₂= t 25 jam, P₃= t 27 jam dengan suhu ekstraksi utama (T) 75 °C, P₄=21 jam, P₅=25 jam, P₆=27 jam dengan T 65 °C. M=protein marker, As= pre-treatment asam sitrat

gelatin yang telah diekstrak dari tulang ikan patin menggunakan ekstrak cair kulit nenas dan air. Protein penanda yang digunakan yaitu protein dengan berat molekul 260 kDa, 140 kDa, 95 kDa, 72 kDa dan 52 kDa. Berdasarkan penelitian-penelitian yang menggunakan

analisis SDS-PAGE dalam uji konfirmasi keberadaan gelatin tulang ikan hasil ekstraksi diketahui bahwa gelatin tulang ikan berada pada kisaran berat molekul 97 kDa sampai >200 kDa (Mahmoodani *et al.*, 2014; Zhang *et al.* 2011; Taheri *et al.*, 2009). Sehingga penggunaan protein penanda pada penelitian ini dianggap cukup untuk mengidentifikasi keberadaan gelatin hasil ekstraksi. Hasil analisis SDS-PAGE gelatin tulang ikan patin yang diekstrak dengan kulit nenas disajikan pada **gambar 1** dibawah ini.

Gambar 1. Hasil konfirmasi dengan SDS-PAGE pada uji pendahuluan.

Keterangan: P₁=lama pre-treatment (t) 21 jam, P₂= t 25 jam, P₃= t 27 jam dengan suhu ekstraksi utama (T) 75 °C. P₄=21 jam, P₅=25 jam, P₆=27 jam dengan T 65 °C. M=protein marker, As= pre-treatment asam sitrat



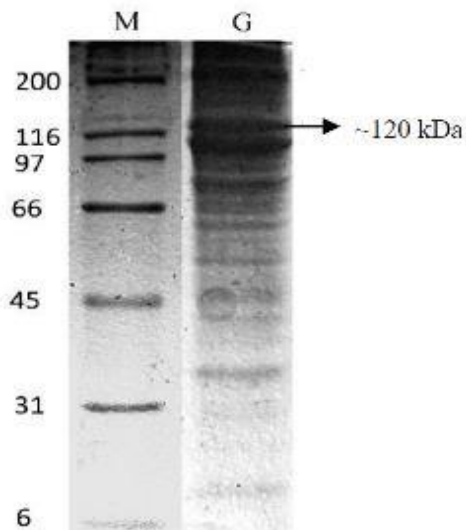
Gambar 1. Hasil analisis identifikasi gelatin tulang ikan patin dengan SDS-PAGE.

Keterangan: G₁=lama pre-treatment (t) 21 jam, G₂= t 25 jam, G₃= t 27 jam dengan suhu ekstraksi utama (T) 75 °C. G₄=21 jam, G₅=25 jam, G₆=27 jam dengan T 65 °C. M=protein marker, As= pre-treatment asam sitrat

Identifikasi keberadaan gelatin tulang ikan patin hasil ekstraksi menggunakan kulit nenas dan air dengan SDS-PAGE dilakukan untuk mengkonfirmasi keberhasilan ekstraksi. Dari hasil identifikasi dengan elektroforesis vertikal ini diketahui bahwa terdapat band/pita atau kumpulan warna pada kisaran berat molekul 120 kDa. Band/pita atau kumpulan warna ini menunjukkan bahwa keberadaan protein gelatin dari tulang dan mengindikasikan keberhasilan perlakuan ekstraksi. Sebaran pita protein dari analisis dengan SDS-PAGE menunjukkan bahwa protein berada pada kisaran berat molekul >260 kDa dan antara 95-140 kDa. Justifikasi

bahwa pita protein yang berada pada kisaran antara 95-140 kDa merupakan gelatin tulang ikan patin dapat dilakukan dari perhitungan mobilitas relatif (Rf) menggunakan protein penanda (marker) dan studi literatur dari penelitian sebelumnya. Penelitian Mahmoodani *et al.* (2014) menunjukkan bahwa gelatin tulang ikan pantin hasil ekstraksi menggunakan HCl dan air panas berada pada kisaran 120 kDa saat diidentifikasi menggunakan SDS-PAGE. **Gambar 2** menyajikan hasil identifikasi SDS-PAGE gelatin tulang ikan patin yang diekstraksi menggunakan HCl dan air panas

yang telah dilakukan oleh Mahmoodani *et al.* (2014).

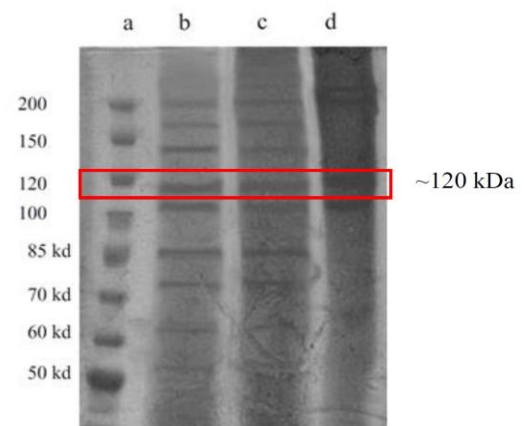


Gambar 2. Identifikasi gelatin tulang ikan patin hasil ekstraksi dengan HCl dan air panas (Mahmoodani *et al.* 2014)

Penelitian Taheri *et al.* (2009) juga berhasil mengidentifikasi gelatin hasil ekstraksi dari tulang ikan beloso pada kisaran berat molekul 120 kDa. Ekstraksi gelatin dari tulang ikan beloso dilakukan menggunakan sodium hidroksida (NaOH), asam sulfat, asam sitrat dan air. Pada saat identifikasi keberadaan gelatin hasil ekstraksi dengan SDS-PAGE, Taheri *et al.* (2009) juga melakukan identifikasi gelatin dari kulit ikan dan gelatin babi. Identifikasi ini dilakukan sebagai pembandingan yang menunjukkan bahwasanya secara keseluruhan gelatin dari sumber manapun memiliki struktur dan berat molekul yang sama. Gelatin tersusun atas ikatan alfa, beta dan gamma. Alfa gelatin memiliki berat molekul ~120 kDa, ikatan beta memiliki berat molekul 250 kDa dan ikatan gamma memiliki berat molekul >250 kDa. Gelatin hasil ekstraksi sebagian besar didominasi oleh ikatan alfa (Zhou & Regenstein 2005). Hasil identifikasi gelatin dari tulang ikan beloso dengan metode vertikal elektroforesis disajikan pada **gambar 3**.

Perbandingan antara hasil identifikasi gelatin tulang ikan pada penelitian ini (**gambar 1**) dengan penelitian Mahmoodani *et al.* (2014) (**gambar 2**) dan Taheri *et al.* (2009) (**gambar 3**) menggunakan metode vertikal elektroforesis menunjukkan bahwa distribusi

atau sebaran protein tulang ikan pada penelitian ini lebih sedikit. Faktor penyebab hasil ini dimungkinkan karena denaturasi protein selama proses ekstraksi atau karena protein dan gelatin yang terekstrak belum maksimal. Kulit nanas merupakan bahan alami yang memiliki perbedaan keasamaan dibandingkan pelarut kimiawi. Namun, meskipun demikian, sebaran pita protein yang lebih sedikit pada SDS-PAGE tidak selalu menunjukkan indikasi negatif, karena semakin murni suatu protein maka semakin sedikit sebaran pita pada kisaran berat molekul yang tidak diinginkan.



Gambar 3. Identifikasi gelatin tulang (b) dan kulit ikan beloso (c) serta gelatin babi (d) (Taheri *et al.* 2009)

Identifikasi gelatin hasil ekstraksi dari tulang ikan patin menggunakan kulit nanas dengan metode elektroforesis vertikal ini menunjukkan bahwa band/pita yang lebih tebal pada perlakuan pre-treatment 27 jam dan ekstraksi utama suhu 75 °C. Kondisi ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu pre-treatment dan semakin tinggi suhu ekstraksi utama, maka kadar gelatin yang dihasilkan akan semakin tinggi. Akan tetapi, suhu ekstraksi utama yang tinggi justru dihindari dalam tahapan ekstraksi gelatin karena berkorelasi negatif dengan kekuatan gel dan viskositas gelatin yang dihasilkan (Nurul & Sabron, 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

Identifikasi gelatin dari tulang ikan patin hasil ekstraksi dengan kulit nanas menggunakan elektroforesis vertikal menunjukkan keberadaan gelatin pada kisaran berat molekul ~120 kDa.

Penelitian terkait optimasi kondisi pre-treatment yang lebih lama perlu dilakukan karena dari hasil identifikasi dengan SDS-PAGE didapatkan band/pita yang lebih tebal dengan perlakuan pre-treatment yang lebih lama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian dosen pemula (PDP) yang didanai oleh Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, sehingga penulis perlu mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset Pengabdian Masyarakat (DRPM) RISTEKDIKTI atas hibah yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiningsih, Y., Purwanti, T. 2015. Karakterisasi mutu gelatin ikan tenggiri (*Scomberomorus commersonii*) dengan perendaman menggunakan asam sulfat dan asam sitrat. *Jurnal Riset Teknologi Industri* 9 (2): 149-156.
- Alfaro, AT., Costa, CS., Fonseca, GG., Prentice, C. 2009. Effect of extraction parameters on the properties of gelatin from king weakfish (*Macrodon ancylodon*) bones. *Food Sci Tech Int.* 15(6): 553-562.
- Arnesen, J.A., Gildberg, A. 2006. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. *Process Biochem.* 41: 697–700.
- Atma, Y. 2017. Amino acid and proximate composition of fish bone gelatin from different warm-water species: A comparative study. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 58 : 1-5.
- Atma, Y. 2016. Pemanfaatan limbah ikan sebagai sumber alternatif produksi gelatin dan peptida bioaktif: review. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi*, Jakarta: 8-9 November.
- Atma, Y. 2011. Produksi dan Karakterisasi Enzim Arabinosa Isomerase dari Gen Bakteri *Geobacillus stearothermophilus* Lokal [tesis]. Bogor: IPB.
- Cho, SM., Kwak, KS., Park, DC., Gu, YS., Ji, CI., Jang, DH., Lee, YB., Kim, SB. 2004. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloids* 18: 573-579.
- Fatimah, D., Jannah, A. 2009. Efektivitas penggunaan asam sitrat dalam pembuatan gelatin tulang ikan bandeng. (*Chanos-chanos forskal*). *Alchemy* 1 (1): 7-15.
- Gomez-Guillen, MC., Perez-Mateos, M., Gomez-Estaca, J., Lopez-Caballero, E., Gimenez, B., Montero, P. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology* 20 : 3-16.
- Gomez-Guillen, MC., Gimenez, B., Lopez-Caballero, ME., Montero, PMP. 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative source: a review. *Food Hydrocolloid*.
- Indrialaksmi, O. 2000. Pembuatan dan Karakterisasi Sifat Fisik Gelatin dari Kulit dan Tulang Ikan Cucut [skripsi]. Bogor: IPB.
- Iqbal, M., Anam, C., Ridwan, A. 2015. Optimasi rendemen dan kekuatan gel gelatin ekstrak tulang ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus* sp.). *Jurnal Teknosains Pangan* 4 (4): 8-16.
- Liu, H.Y., Han, J., and Guo, S.D. 2009. Characteristics of the gelatin extracted from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) head bones. *Lebensm. Wiss. Technol.* 42, 540–544.
- Mahmoodani F, Ardekani VS, See SF, Yusop SM, Babji AS. 2014. Optimization and physical properties of gelatin extracted from pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) bone. *J Food Sci Technol* 51 (11): 3104–3113.
- Mariod, A.A., Bushra, M., Abdel-Wahab S.I., Ain, N.M. 2011. Proximate, amino acid, fatty acid and mineral composition of two Sudanese edible insects. *Int. J. Trop. Insect* 31 (3): 145-15.
- Marsaid, Atmaja. 2011. Karakterisasi Sifat Kimia, Fisik, dan Termal Ekstrak Gelatin Dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus Sp*) Pada Variasi Larutan Asam untuk Perendaman. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia* III, Surakarta.
- Muyonga, JH., Colec, CGB., Duodub, KG. 2004. Extraction and physicochemical characterisation of Nile perch (*Lates*

- niloticus*) skin and bone gelatine. *Food Hydrocolloids* 8: 581-592.
- Nurul, AG., Sarbon, NM. 2015. Effects of pH on functional, rheological and structural properties of eel (*Monopterus* sp.) skin gelatin compared to bovine gelatin. *International Food Research Journal* 22(2): 572-583.
- Rahayu, F., Fithriyah, NH. 2015. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap rendemen gelatin tulang ikan nila merah. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi*, Jakarta: 17 November.
- Sanaei AV, Mahmoodani F, See SF, Yusop SM, Babji AS. 2013. Optimization of gelatin extraction and physico-chemical properties of catfish (*Clarias gariepinus*) bone gelatin. *International Food Research Journal* 20 (1): 423-430.
- Santoso, C., Surti, T., Sumardianto. 2015. Perbedaan penggunaan konsentrasi larutan asam sitrat dalam pembuatan gelatin tulang rawan ikan pari mondol (*Himantura gerrardi*). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* 4 (2): 106-114.
- Syahrani, Anwar, M., Hasri. 2017. Pengaruh konsentrasi asam sitrat dan waktu demineraliasi pada perolehan gelatin dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus* sp.). *Analytical and Environmental Chemistry* 2 (1): 53-62.
- Taheri, A., Kenari, AMA., Gildberg, A., Behnam, S. 2009. Extraction and physicochemical characterization of greater lizardfish (*saurida tumbil*) skin and bone gelatin. *Journal Of Food Science* 74 (3): 160-165.
- Wasswa, J., Tang, J., Gu X. 2007. Utilization of fish processing by-products in the gelatin industry. *Food Reviews Int.*, 23:159–174.
- Widyasari, R., Rawdkue, S. 2014. Extraction and characterization of gelatin from chicken feet by acid and ultrasound assisted extraction. *Food Applied Bioscience J.* 2 (1): 85-97.
- Zhang, F., Xu, S., Wang, Z. 2011. Pretreatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales. *Food Bioprod. Process.* 89, 185–193.
- Zhou, P., Regenstein, JM. 2005. Effects of Alkaline and acid pretreatments on Alaska pollock skin gelatin extraction. *J. Food Science* 70 (6): 392-396.